

PRIJS f 2.50

OCTROOIRAAD



NEDERLAND

Ter inzage gelegde

Octrooiaanvraag No. 6 5 1 1 4 2 0

Klasse 124 tp 3 c.

I. P. C. C 07 d.

Indieningsdatum: 1 september 1965, Datum van ter inzagelegging: 3 maart 1966.
24 uur.

De hierna volgende tekst is een afdruk van de beschrijving met conclusie(s) en tekening(en), zoals deze op bovengenoemde datum werden ingediend.

Aanvrager: Merck & Co., Inc., te RAHWAY, New Jersey, Ver.St.v.Amerika

Gemachtigde: Nederlandsch Octrooibureau (~~Ir. N. Rusting~~, Dr. J. G. Frielink
en Ir. G. F. van der Beek), Zwarteweg 5, 's-Gravenhage.

Ingeroepen recht van voorrang: 2 september 1964 (No. 394.054)
(Ver.St.v.Amerika)

Korte aanduiding: Werkwijze voor het bereiden van arabinofuranosyl-
pyrimidinen.

5 De uitvinding heeft betrekking op een nieuwe werkwijze voor
het bereiden van arabinofuranosylpyrimidinen en meer in het bij-
zonder op de stereospecifieke synthese van dergelijke pyrimidinen.
Meer in het bijzonder heeft de uitvinding betrekking op een nieuwe
werkwijze voor het bereiden van 1- β -D-arabinofuranosylpyrimidinen,
waarvan enkele nieuw zijn alsmede op de bereiding van bepaalde
nieuwe tussenprodukten, die bij de synthese worden toegepast.

10 Sinds kort is grote belangstelling ontstaan voor arabinofurano-
sylpyrimidinen in verband met de ontdekking dat zij chemotherapeu-
tisch bruikbaar zijn. In het bijzonder blijken zij, en wel zeer spe-
ciaal cytosine-arabinoside, een selectieve antivirele activiteit
tegen DNA-virussen te bezitten, zoals Herpes-keratitis en vaccinia.

De synthese van pyrimidine-arabinonucleosiden omvat gewoonlijk
een meertraps-synthese uit de overeenkomstige ribofuranosylnucleo-

6 5 1 1 4 2 0

siden, in het algemeen via de cyclonucleosiden. Dergelijke syntheses zijn echter niet geheel bevredigend, omdat de verkregen opbrengsten dikwijls klein zijn en de syntheses zelf veel moeilijkheden leveren. Het is daarom gewenst voor de bereiding van dergelijke verbindingen
5 nieuwe syntheses te verschaffen, die op economische en eenvoudige wijze kunnen worden uitgevoerd uitgaande van beschikbare uitgangsmaterialen.

De uitvinding heeft daarom ten doel een nieuwe werkwijze te verschaffen voor het bereiden van arabinofuranosylpyrimidinen. Tevens heeft de uitvinding ten doel een werkwijze te verschaffen
10 voor de bereiding van arabinofuranosylpyrimidinen van de β -configuratie. Bovendien heeft de uitvinding ten doel een werkwijze te verschaffen voor de totale synthese van een aantal arabinofuranosylpyrimidinen van de β -configuratie. Tevens heeft de uitvinding
15 ten doel bepaalde nieuwe 1- β -D-arabinofuranosylpyrimidinen te bereiden. Tevens heeft de uitvinding ten doel nieuwe tussenproducten te verschaffen, die geschikt zijn voor de bereiding van 1- β -D-arabinofuranosylpyrimidinen.

Volgens de uitvinding werd nu gevonden, dat arabinofuranosylpyrimidinen volgens een algemene methode kunnen worden bereid,
20 waarbij pyrimidineverbindingen gecondenseerd worden met een door halogeen gesubstitueerd arabinofuranoside volgens het algemene reactieschema van fig. 1, waarin R een al dan niet gesubstitueerde aralkylgroep, zoals een benzylgroep of een gesubstitueerde benzylgroep,
25 bijvoorbeeld een alkylbenzyl-, halogeenbenzyl-, alkoxybenzyl-, nitrobenzylgroep, en dergelijke, R_1 en R_2 alkylgroepen, R_3 een waterstofatoom, een alkylgroep, een halogeenatoom, zoals een fluor-, chloor-, of broomatoom, of een halogeenalkylgroep, bijvoorbeeld
een trifluormethylgroep, X een halogeenatoom, zoals een chloor- of broomatoom, Y een zuurstof- of zwavelatoom en R_4 en R_5 waterstofatomen en/of alkylgroepen voorstellen.
30

Zoals uit het reactieschema van fig. 1 blijkt, omvat de werkwijze volgens de uitvinding de condensatie van een halogeenarabinofuranoside (I) onder bepaalde omstandigheden met een geschikt pyrimidine (Ia) onder vorming van verbindingen met de formule (II),
35 die in het algemeen kunnen worden aangeduid als op de plaats 4 ge-

substitueerde 1-(2'.3'.5'-tri-O-aralkyl β -D-arabinofuranosyl)
2(1H) pyrimidinonen. Opgemerkt wordt, dat bij deze trap eveneens
de omzetting van de 2-alkoxygroep van het pyrimidine in de 2-keto-
groep plaats vindt. De verbindingen met de formule II worden dan
5 behandeld teneinde de 4-alkoxy- of 4-alkylthiogroep om te zetten
in een aminogroep of een gesubstitueerde aminogroep door aminering
bij een verhoogde temperatuur met een geschikt amine en hierop
volgende hydrogenering van de geamioneerde verbinding (III), zoals
onderstaand nader zal worden beschreven, teneinde de aralkylgroen
10 pen op de plaatsen 2', 3', en 5' te verwijderen, zodat men een
1- β -D-arabinofuranosylpyrimidine (IV) verkrijgt.

Met betrekking tot de afzonderlijke trappen van het reactie-
schema van fig. 1 kan verder worden opgemerkt, dat als verbinding
I een 2.3.5-tri-O-aralkyl D-arabinofuranosylhalogenide, zoals het
15 chloride of bromide, waarvan het chloride de voorkeur verdient (on-
derstaand soms aangeduid als de halogeensuiker, chloorsuiker of
broomsuiker) wordt gebruikt bij de omzetting met het gesubstitueer-
de pyrimidine (Ia). De halogeensuiker bezit de D-configuratie ten
opzichte van het koolstofatoom op de plaats 4.

20 De omstandigheden, die bij trap A worden toegepast, zijn kri-
tisch voor het verkrijgen van het pyrimidinon in een hoge opbrengst.
Zo is het bij de omzetting vereist, dat de reactiecomponenten wor-
den gecondenseerd bij aanwezigheid van een oplosmiddel en bij een
temperatuur van 0 tot 70°C. Een temperatuur van 15 tot 40°C ver-
25 dient de voorkeur voor de omzetting. De hoeveelheid van de reactie-
componenten is niet kritisch, hoewel het de voorkeur verdient een
overmaat van het pyrimidine te gebruiken. Als oplosmiddelen kunnen
alle oplosmiddelen worden gebruikt, die inert zijn ten opzichte
van het systeem, zoals bijvoorbeeld gehalogeerde alifatische op-
30 losmiddelen, zoals dichloormethaan en dichloorethaan, koolwater-
stoffen, zoals hexaan, cyclohexaan en heptaan, aromatische oplos-
middelen, zoals benzeen, toluen en xyleen, ethers, zoals 1.2-di-
methoxyethaan, tetrahydrofuran en diethylether, en esters, zoals
ethylacetaat, amiden, zoals dimethylformamide en dergelijke. Het
35 verdient de voorkeur gehalogeneerde alifatische oplosmiddelen te
gebruiken, zoals in het bijzonder dichloormethaan. Men laat de om-

zetting gewoon voortgang vinden, waarbij de omzetting, indien deze bij lagere temperaturen van ongeveer kamertemperatuur wordt uitgevoerd, gewoonlijk in verloop van 24 tot 96 uren is voltooid. Hierna wordt de reactiemassa aan een behandeling in vacuo onderworpen ten-
5 einde het resterende oplosmiddel te verwijderen, waarna het residu, indien gewenst, direct zonder verdere zuivering of behandeling bij de volgende trap, B, wordt gebruikt. Indien de omzetting op de beschreven wijze wordt uitgevoerd, verkrijgt men het pyrimidinon bij de condensatietrap in een praktisch kwantitatieve opbrengst. Als
10 pyrimidine-reactiecomponenten kunnen onder andere worden gebruikt: 2.4-dimethoxypyrimidine, 2-methoxy 4-methylthiopyrimidine, 2.4-diethoxypyrimidine, 2-ethoxy 4-ethylthiopyrimidine, 2.4-dimethoxy 5-trifluormethylpyrimidine, 2.4-dimethoxy 5-fluorpyrimidine, 2.4-dimethoxy 5-methylpyrimidine, 2-methoxy 4-methylthio 5-trifluor-
15 methylpyrimidine en dergelijke, waarvan 2.4-dimethoxy-, 2.4-dimethoxy 5-trifluormethyl-, 2-methoxy 4-methylthio- en 2-methoxy 4-methylthio 5-trifluormethylpyrimidine de voorkeur verdienen. Als voorbeelden van de halogeensuikers, die kunnen worden toegepast, kunnen onder andere worden genoemd: 2.3.5-tri-O-benzyl D-arabinofuranosylchloride, 2.3.5-tri-O-benzyl D-arabinofuranosylbromide,
20 2.3.5-tri-O-p-methylbenzyl D-arabinofuranosylchloride, 2.3.5-tri-O-p-chloorbenzyl D-arabinofuranosylchloride en dergelijke, waarvan het tri-O-benzyl D-arabinofuranosylchloride de voorkeur verdient.

Bij trap A van de werkwijze verkrijgt men, zoals opgemerkt,
25 pyrimidinonen, die op de plaatsen 2', 3' en 5' gesubstitueerd zijn door de aralkylrest, overeenkomende met de aralkylrest, die aanwezig is in het arabinoside en waarin bovendien de betreffende substituenten op de plaatsen 4 en 5 aanwezig zijn. Indien de rest R_3 op de plaats 5 een alkylgroep, een halogeenaatoom of een halogeenaalkylgroep is, zijn de verbindingen met de formule II nieuw. De
30 condensatie van de halogeensuiker met het pyrimidine vindt plaats aan het koolstofaatom op de plaats 1 van de halogeensuiker en het stikstofaatom op de plaats 1 van het pyrimidine, waarbij het condensatieproduct de β -configuratie verkrijgt, zodat de RO-groep van de halogeensuiker op de plaats 2' de cis-stand ten opzichte van de
35 pyrimidinonrest bezit. Bovendien wordt de alkoxygroep, die aanvan-

6 5 1 1 4 2 0

kelijk op de plaats 2 van de pyrimidinereactiecomponent aanwezig is, omgezet in een ketogroep, zodat men de pyrimidinonrest verkrijgt.

Representatieve voorbeelden van de verbindingen, die volgens trap A van de werkwijze worden verkregen, zijn onder andere:

5 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-methoxy 2(1H) pyrimidinon, 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-methylthio 2(1H) pyrimidinon, 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-methylthio 5-trifluormethyl 2(1H) pyrimidinon, 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-methoxy 5-trifluormethyl 2(1H) pyrimidinon, 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-methoxy 5-fluor 2(1H) pyrimidinon, 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-methylthio 5-fluor 2(1H) pyrimidinon, 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-methoxy 5-methyl 2(1H) pyrimidinon en dergelijke, waarvan 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinosyl) 4-methoxy 5-trifluormethyl 2(1H) pyrimidinon, 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-methylthio 5-trifluormethyl 2(1H) pyrimidinon, 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-methoxy 2(1H) pyrimidinon en 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-methylthio 2(1H) pyrimidinon de voorkeur verdienen.

Bij trap B van de werkwijze vindt een aminering van de verbindingen met de formule II plaats teneinde de substituent ervan op de plaats 4 om te zetten in een aminogroep of een gesubstitueerde aminogroep door aminering onder druk met naar wens ammoniak of ammoniumhydroxyde of een primair of secundair amine teneinde verbindingen met de formule III te verkrijgen, die nieuw zijn, indien de rest R_3 een alkylgroep, een halogeenaatoom of een halogeenalkylgroep, is. De omzetting wordt bij verhoogde temperatuur uitgevoerd, waardoor temperaturen van 50 tot 125°C geschikt zijn. Er bestaat voor deze reactie een verband tussen de tijd en de temperatuur, waarbij perioden van 2 tot 3 dagen vereist zijn voor een praktisch volledige omzetting bij de lagere temperaturen. Het verdient echter de voorkeur de omzetting uit te voeren bij temperaturen van 80 tot 110°C in welk geval de omzetting in verloop van een periode van 10 tot 20 uren is beëindigd. De bij de omzetting toegepaste druk

6511420

is de druk, die door de toegepaste reactiecomponenten alsmede het toegepaste oplosmiddelsysteem worden ontwikkeld bij de toegepaste temperatuur. Het systeem wordt daarom in een gesloten vat gehouden teneinde deze druk te ontwikkelen. De omzetting wordt bij voorkeur
5 uitgevoerd bij aanwezigheid van een inert oplosmiddel, zoals alkanolen, maar bijvoorbeeld methanol, ethanol, butanol en dergelijke, ethers, zoals tetrahydrofuran en dimethylether, en vloeibare koolwaterstoffen, zoals hexaan, octaan en dergelijke. Als oplosmiddelen verdienen de alkanolen de voorkeur en in het bijzonder methanol.
10 Verder werd gevonden, dat men, indien verbindingen met de formule II, waarin de rest R_3 een trifluormethylgroep is, met ammoniak worden omgezet, verrassenderwijze behalve het op de plaats 4 gamineerde 5-trifluormethylarabonoside een andere verbinding verkrijgt, die op zichzelf nieuw is en volgens de elementair-analyse en het ultraviolet- en infraroodspectrum het 5-cyaanderivaat blijkt te zijn.
15 Er treedt dus een omzetting aan de 5-trifluormethylgroep op, waarbij deze groep omgezet wordt in de cyaangroep. Deze verbindingen kunnen van de 5-trifluormethylverbinding worden afgescheiden door herhaalde gefractioneerde kristallisatie uit methanol en/of isopropanol of benzeenoplossingen.
20

Indien R_4 en R_5 waterstofatomen voorstellen, wordt als amineringsmiddel vloeibare ammoniak of ammoniumhydroxyde gebruikt. Indien één van de resten R_4 en R_5 een alkylgroep is, wordt een primair amine met de betreffende alkylgroep, zoals methylamine, ethylamine, propylamine en dergelijke, als amineringsmiddel gebruikt,
25 terwijl indien beide resten R_4 en R_5 alkylgroepen zijn, een secundair amine met de betreffende alkylgroep, zoals dimethylamine, diethylamine en dipropylamine, wordt toegepast. Indien alkylgroepen met een groter aantal koolstofatomen gewenst zijn, zal het betreffende amineringsmiddel worden gebruikt. Met betrekking tot de toegepaste hoeveelheden van de stoffen verdient het de voorkeur een overmaat van het amineringsmiddel te gebruiken. Na afloop van de omzetting wordt het geamineerde produkt volgens een gebruikelijke wijze uit het reactiemengsel geïsoleerd en bij trap C van de werkwijze gebruikt. Representatieve voorbeelden van de verbindingen,
30 die bij de uitvoering van trap B worden verkregen, zijn onder andere:
35

65:1420

1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-amino 2(1H) pyrimidinon, eveneens aangeduid als 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) cytosine, 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinosyl) 4-amino 5-cyaan 2(1H) pyrimidinon, 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-methylamino 2(1H) pyrimidinon, 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-ethylamino 2(1H) pyrimidinon, 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-dimethylamino 2(1H) pyrimidinon, 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-diethylamino 2(1H) pyrimidinon, 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-amino 5-trifluormethyl 2(1H) pyrimidinon, 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-amino 5-methyl 2(1H) pyrimidinon, 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-amino 5-fluor 2(1H) pyrimidinon, 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-methylamino 5-trifluormethyl 2(1H) pyrimidinon, 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-dimethylamino 5-trifluormethyl 2(1H) pyrimidinon, 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-ethylamino 5-trifluormethyl 2(1H) pyrimidinon en 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-diethylamino 5-trifluormethyl 2(1H) pyrimidinon.

Bij trap C van de werkwijze worden de verbindingen met de formule III behandeld teneinde de aralkylgroepen op de plaatsen 2', 3' en 5' te verwijderen door hydrogenolyse bij aanwezigheid van een oplosmiddel en een katalysator, waarbij men de verbindingen met de formule IV verkrijgt, die nieuw zijn, indien de substituent op de plaats 5 een alkylgroep, een halogeematoom, een halogeen-alkylgroep, zoals trifluormethylgroep, of een cyaangroep is, en welke verbindingen een antivirele en antibacteriële activiteit bezitten. Als katalysatoren kunnen platina, nikkel en palladium worden gebruikt, waarvan palladium de voorkeur verdient. De palladiumkatalysator wordt op geschikte wijze gevormd in hetzelfde reactievat, dat voor de hydrogenering wordt gebruikt, door een als precursor gebruikte palladiumverbinding, zoals palladiumchloride, te reduceren in hetzelfde oplosmiddelsysteem als voor de hydrogenering wordt toegepast. Vervolgens worden de verbindingen met de formule III bij het systeem toegevoegd en met waterstof in aanraking gebracht. Als geschikte oplosmiddelen kan men alkanolen, zoals

6 5 1 1 4 2 0

methanol, ethanol, butanol en dergelijke, ethers, zoals dimethyl-
ether, tetrahydrofuran, dimethoxyethaan en dergelijke en zuren,
zoals azijnzuur, gebruiken. Hiervan verdienen alkanolen en in het
bijzonder methanol de voorkeur. De omzetting wordt op eenvoudige
5 wijze bij kamertemperatuur uitgevoerd, hetgeen de voorkeur verdient,
hoewel eveneens andere temperaturen, die niet van nadeel zijn voor
de stabiliteit van het systeem, kunnen worden toegepast, terwijl
onder atmosferische of enigszins verhoogde druk kan worden gewerkt.
De omzetting is gewoonlijk na een korte tijd in de orde van 10 of
10 15 minuten tot 1 uur voltooid, waarna de katalysator wordt afgefil-
treerd en het filtraat wordt geëvacueerd teneinde het oplosmiddel
hieruit te verwijderen. Tijdens de bereiding van de palladiumkataly-
sator in situ uit het palladiumchloride verkrijgt het reactie-
milieu tengevolge van de vorming van chloorwaterstof een zuur ka-
15 rakter, hetgeen aanleiding geeft tot de vorming van het hydrochlo-
ridezout van het eindproduct aan de aminogroep of gesubstitueerde
aminogroep op de plaats 4. Het is daarom gewenst de oplossing met
een base of een ionenuitwisselende hars of een dergelijk materiaal
te neutraliseren, voordat het produkt wordt geïsoleerd. Op dit mo-
20 ment wordt de neutrale oplossing geconcentreerd, waarna het pro-
dukt wordt geïsoleerd en behandeld teneinde de verontreinigingen
te verwijderen, hetgeen op bekende wijze kan worden uitgevoerd.
Deze trap van de werkwijze is effectief voor het bereiden van het
gewenste arabinoside-pyrimidine door de verwijdering van de aral-
25 kylsubstituenten op de plaatsen 2', 3' en 5'. De opbrengsten van
het eindproduct bij de totale synthese variëren normaliter van
50 tot 65 %. Typische voorbeelden van de verkregen verbindingen
zijn 1-β-D-arabinofuranosyl 4-amino 2(1H) pyrimidinon, eveneens
algemeen bekend als cytosine arabinoside, 1-β-D-arabinofuranosyl
30 4-methylamino 2(1H) pyrimidinon, 1-β-D-arabinofuranosyl 4-dimethyl-
amino 2(1H) pyrimidinon, 1-β-D-arabinofuranosyl 4-amino 5-tri-
fluormethyl 2(1H) pyrimidinon, 1-β-D-arabinofuranosyl 4-amino
5-cyaan 2(1H) pyrimidinon, 1-β-D-arabinofuranosyl 4-amino 5-fluor
2(1H) pyrimidinon, 1-β-D-arabinofuranosyl 4-amino 5-methyl 2(1H)
35 pyrimidinon, 1-β-D-arabinofuranosyl 4-methylamino 5-trifluormethyl
2(1H) pyrimidinon, 1-β-D-arabinofuranosyl 4-methylamino 5-fluor

6 5 1 1 4 2 0

2(1H) pyrimidinon, 1- β -D-arabinofuranosyl 4-methylamino 5-methyl
2(1H) pyrimidinon, 1- β -D-arabinofuranosyl 4-dimethylamino 5-tri-
fluormethyl 2(1H) pyrimidinon, 1- β -D-arabinofuranosyl 4-dimethyl-
amino 5-fluor 2(1H) pyrimidinon en 1- β -D-arabinofuranosyl 4-dime-
thylamino 5-methyl 2(1H) pyrimidinon.

Zoals uit de beschrijving van de bovenstaande uitvoeringsvorm
van de uitvinding blijkt, verkrijgt men volgens de totale synthese
cytosine-arabinoside en derivaten hiervan. Eveneens is het moge-
lijk de trap B te omzeilen. De verbindingen II kunnen namelijk
worden gehydrolyseerd teneinde de 4-alkoxy- of 4-alkylthiosubsti-
tuent in de ketogroep om te zetten, zodat men bij de hierop vol-
gende hydrogenolyse uracil arabinosiden en derivaten hiervan ver-
krijgt. Deze uitvoeringsvorm wordt toegelicht aan de hand van het
reactieschema van fig. 2.

In het algemeen vindt bij trap B₁ een behandeling van verbin-
dingen met de formule II plaats teneinde de 4-alkylthio- of 4-al-
koxegroep te hydrolyseren tot de ketogroep. Dit kan worden uitge-
voerd door de verbinding in aanraking te brengen met een mineraal
zuur, zoals broomwaterstofzuur, chloorwaterstofzuur en zwavelzuur.
Volgens een geschikte methode wordt een waterig zuur en, indien
gewenst, een verder oplosmiddel, zoals een alkanol gebruikt. Voor
de hydrolyse zijn temperaturen variërende van kamertemperatuur tot
de temperatuur, waarbij het systeem onder terugvloeiakoeling kookt,
geschikt. Representatieve voorbeelden van de verbindingen met de
formule IIIa, die volgens trap B₁ worden verkregen, zijn
1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-oxopyrimidinon
(dat op geschikte wijze eveneens kan worden aangeduid als 1-(2'.3'.
5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) uracil), 1-(2'.3'.5'-tri-O-
benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-oxo 5-trifluormethylpyrimidinon,
1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 5-fluorpyrimidinon,
1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuramsyl) 5-methylpyrimidinon
en dergelijke. Deze verbindingen worden vervolgens in verbindingen
met de formule IVa omgezet door de verbindingen met de formule IIIa
te behandelen volgens de methode beschreven voor trap C van het
reactieschema van fig. 1, waardoor de aralkylsubstituenten op de
plaatsen 2', 3' en 5' worden verwijderd en men verbindingen van de

6 5 1 1 4 2 0

groep van de uracil arabinosiden verkrijgt. De volgorde van de trappen B₁ en C kan, indien gewenst, worden omgekeerd, in welk geval de resten R in de verbindingen met de formule IIIa waterstofatomen zouden zijn en de groep -YR₂ op de plaats 4 van de verbindingen met de formule II ongewijzigd zou blijven, totdat trap B₁ is uitgevoerd. Typische voorbeelden van dergelijke verbindingen zijn 1-β-D-arabinofuranosyl 4-oxopyrimidinon (eveneens aangeduid als uracil arabinoside), 1-β-D-arabinofuranosyl 4-oxo 5-trifluormethylpyrimidinon, 1-β-D-arabinofuranosyl 4-oxo 5-fluorpyrimidinon en 1-β-D-arabinofuranosyl 4-oxo 5-methylpyrimidinon.

Volgens een verdere uitvoeringsvorm van de uitvinding worden de verbindingen met de formule III, waarin R₄ en R₅ waterstofatomen voorstellen, eveneens verkregen door condensatie van de halogeensuikerreactiecomponent van trap A met een kwikcomplex van een N-acetylcytosine (N-acetyl 4-amino 5R₃ 2(1H) pyrimidinon), welke omzetting bij hoge temperatuur wordt uitgevoerd, bij voorkeur onder omstandigheden, waarbij koken onder terugvloeiakoeling optreedt, bij aanwezigheid van een oplosmiddel, en hierop volgende behandeling van het condensatieproduct met een base teneinde de 4-N-acetylgroep te verwijderen. Deze omzetting wordt toegelicht aan de hand van het reactieschema van fig. 3. Bij trap A₁ kunnen in het algemeen oplosmiddelen, zoals aromatische oplosmiddelen, bijvoorbeeld toluen, xyleen, benzeen en dergelijke, alsmede alifatische oplosmiddelen, zoals heptaan, octaan en dergelijke, worden toegepast. De omzettingstemperaturen kunnen op geschikte wijze variëren van 0 tot 100°C, waarbij het de voorkeur verdient de omzetting uit te voeren bij de temperatuur, waarbij het bepaalde toegepaste oplosmiddelsysteem onder terugvloeiakoeling kookt, hoewel de eigenlijke omstandigheden niet kritisch zijn. Na afloop van de omzetting, die onder omstandigheden, waarbij onder terugvloeiakoeling wordt gekookt, gewoonlijk 10 minuten tot 1 uur vergt, wordt het product in oplossing verkregen. Het is moeilijk een kristallisatie teweeg te brengen, zodat het de voorkeur verdient het oplosmiddel in vacuo uit het reactiemengsel te strippen en het product door extractie met een oplosmiddel, zoals chloroform, te verwijderen. Bij deze trap treedt een condensatie van het kwikcomplex van

N-acetylcytosine en de halogeensuiker op en verkrijgt men verbin-
dingen met de formule V, die in het algemeen kunnen worden aange-
duid als 4-N-acetyl 5R₃ 1-(2'.3'.5'-tri-O-aralkyl β-D-arabino-
furanosyl) cytosine. Als voorbeelden van andere produkten, die bij
5 deze trap worden verkregen, kunnen worden genoemd: 4-N-acetyl 5-
trifluormethyl 1-(2'.3'.5'-tri-O-aralkyl β-D-arabinofuranosyl)
cytosine, 4-N-acetyl 5-fluor 1-(2'.3'.5'-tri-O-aralkyl β-D-arabino-
furanosyl) cytosine en 4-N-acetyl 5-methyl 1-(2'.3'.5'-tri-O-
aralkyl β-D-arabinofuranosyl) cytosine.

10 De verbindingen met de formule V worden dan bij trap D omge-
zet in verbindingen met de formule III door behandeling met een
geschikte base voor het verwijderen van de acetylgroep en het stik-
stofatoom op de plaats 4. Voor de omzetting worden verhoogde tem-
peraturen toegepast, zoals temperaturen van 50 tot 100°C waarbij
15 bevredigende resultaten worden verkregen, hoewel temperaturen van
65 tot 90°C de voorkeur verdienen. Als base kan elke geschikte
base worden gebruikt, die sterker dan natriumcarbonaat is, zoals
natriumhydroxyde, kaliumhydroxyde, organische basen, zoals benzyl-
trimethylammoniumhydroxyde en dergelijke. De hydrolyse wordt, in-
20 dien gewenst, uitgevoerd bij aanwezigheid van een oplosmiddel,
zoals een alkanol, bijvoorbeeld methanol, ethanol, butanol en der-
gelijke, en ethers, zoals tetrahydrofuran, dioxan, dimethoxyethaan,
en dergelijke.

Na afloop van de omzetting wordt het produkt in oplossing ver-
25 kregen en kan het met een geschikt oplosmiddel, zoals chlooroform,
worden geëxtraheerd om hierna volgens het voorschrift van trap C
te worden behandeld voor het verkrijgen van verbindingen met de
formule IV waarin R₄ en R₅ waterstofatomen voorstellen.

Volgens een verdere uitvoeringsvorm van de uitvinding worden
30 de verbindingen met de formule III verkregen door omzetting van
de halogeensuiker, bij voorkeur bij aanwezigheid van een oplos-
middel, met een alkalimetaalderivaat van een 4-alkylthio- of 4-
alkoxypyrimidinon-(2), zoals verkregen wordt door behandeling van
het pyrimidine met natriumhydride, kaliumhydride, natriumamide,
35 methyllithium en dergelijke. Het uitgangsmateriaal is bij voorkeur
de methylthioverbinding. Het verdient de voorkeur het alkalimetaal-

6 5 1 1 4 2 0

derivaat in situ te bereiden door het pyrimidine, de halogeensuiker en het betreffende alkalimetaalhydride met elkaar te verenigen en deze tegelijkertijd tot omzetting te brengen. Deze uitvoeringsvorm van de uitvinding wordt nader toegelicht aan de hand van het reactieschema van fig. 4. Hoewel de omzetting bij voorkeur bij kamertemperatuur wordt uitgevoerd, is de reactietemperatuur niet kritisch en kan deze variëren van 0 tot 50°C, afhankelijk van het toegepaste oplosmiddelsysteem, indien een oplosmiddelsysteem wordt toegepast. Als oplosmiddelen kunnen worden genoemd dimethylformamide, tetrahydrofuran, dimethoxyethaan, benzeen, toluen, xyleen en dergelijke. De condensatiereactie is effectief voor het bereiden van verbindingen met de formule VI, die in het algemeen aangeduid worden als 1-(2'.3'.5'-tri-O-*aralkyl* β -D-arabinosyl) 4-alkylthio- of -alkoxy 5R₃-pyrimidinonen. Als representatieve voorbeelden hiervan kunnen worden genoemd: 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinosyl) 4-methylthio-pyrimidinon, 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinosyl) 4-methoxy-pyrimidinon, 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinosyl) 4-methylthio 5-trifluormethyl-pyrimidinon, 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinosyl) 4-methoxy 5-trifluormethyl-pyridinon, 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinosyl) 4-methylthio 5-fluor-pyrimidinon en 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinosyl) 4-methylthio 5-methyl-pyrimidinon. Deze verbindingen kunnen dan worden omgezet in verbindingen met de formule III volgens het bovenbeschreven voorschrift van trap B teneinde de alkylthio- of alkoxygroep te verwijderen en de aminogroep of de gesubstitueerde aminogroep op de plaats 4 te verkrijgen. De verbindingen met de formule IV kunnen vervolgens uit de verbindingen met de formule III worden bereid volgens het voorschrift van trap C.

De verbindingen met de formule Ia, waarin R₃ een halogeenaatoom, een alkylgroep of een halogeenalkylgroep, zoals een trifluormethylgroep voorstellen, zijn nieuw en kunnen op verschillende manieren worden bereid. Bij voorkeur wordt het betreffende op de plaats 5 gesubstitueerde uracil als uitgangsmateriaal gekozen. De 5-trifluormethyl-, 5-fluor- en 5-methyluracillen zijn bekend, terwijl de andere overeenkomstige door halogeenaatomen of alkylgroepen gesubstitueerde uracillen, die niet bekend zijn, bereid kunnen worden

volgens de methode, die toegepast worden voor de bereiding van de bekende stoffen onder toepassing van de betreffende halogeen- of alkylreagentia in plaats van de fluor- of methylreagentie. Deze op de plaats 5 gesubstitueerde uracillen worden dan behandeld teneinde de 2.4-diketogroepen in 2.4-dihalogeengroepen om te zetten onder toepassing van bij voorkeur fosforoxychloride of fosforpentachloride. De verkregen verbinding wordt dan met het betreffende alkalimetaal-alkanolaat behandeld teneinde de 2.4-dichloorgroepen om te zetten in de 2-R₁O- en 4-R₂Y-groepen, waarin Y een zuurstofatoom voorstelt, zodat men verbindingen met de formule Ia verkrijgt.

Indien Y in de groep R₂Y- een zwavelatoom voorstelt, worden de verbindingen met de formule Ia eveneens bereid uit het betreffende op de plaats 5 gesubstitueerde uracil door het uracil te behandelen met fosforoxychloride of fosforpentachloride en hierop volgende behandeling van de 2.4-dihalogeenverbinding met 1 mol van een zout van methylmercaptan per mol van de dihalogeenverbinding teneinde de 4-chloor-groep preferent in de 4-R₂S-groep om te zetten. Deze verbinding wordt dan op de bovenbeschreven wijze behandeld met het betreffende alkanolaat teneinde het op de plaats 5 gesubstitueerde 2-alkoxy 4-alkylthiopyrimidine te verkrijgen. Men dient ervoor te zorgen dat rigoureuze omstandigheden bij de bovenbeschreven omzetting worden vermeden, indien R₃ een trifluormethylgroep voorstelt, teneinde een ontleding van deze groep te vermijden.

De op de plaats 5 gesubstitueerde pyrimidinen, die bij trap A₂ van het reactieschema van fig. 4 worden toegepast, indien Y een zwavelatoom voorstelt, worden bereid door behandeling van het betreffende op de plaats 5 gesubstitueerde uracil met fosforpenta-sulfide teneinde de 4-ketogroep in de 4-thiogroep om te zetten. Deze wordt vervolgens gealkyleerd met het betreffende alkylerings-middel, zodat men de 2-keto 4-alkylthioverbinding verkrijgt, die dan gebruikt kan worden voor de omzetting in het alkalimetaalderivaat, zoals bovenstaand is beschreven. De op de plaats 5 gesubstitueerde pyrimidinen, die bij trap A₁ worden toegepast, worden bereid uit de 2-keto 4-alkylthioverbinding door deze stof eerst met ammoniak en vervolgens met azijnzuuranhydride te behandelen, zodat men het 4-N-acetyl 4-amino 2(1H) pyrimidinon verkrijgt, dat op de plaats 5

is gesubstitueerd en dat dan op bekende wijze in het kwikcomplex kan worden omgezet.

De uitvinding wordt nader toegelicht aan de hand van de voorbeelden, die echter geen beperking inhouden.

VOORBEELD I

1-(2',3',5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-methoxy 2(1H)-pyrimidinon (II)

Men voegt een overmaat van 17,36 g (0,124 mol) 2,4-dimethoxy-
5 pyrimidine, opgelost in 50 cm³ watervrij dichloormethaan, bij 25,9 g
(0,0591 mol) kleurloos 2,3,5-tri-O-benzyl D-arabinofuranosylchloride
in 800 cm³ dichloormethaan, dat op magnesiumsulfaat is gedroogd en
direct in het reaktievat wordt afgefiltreerd. De halogeensuiker wordt
10 bereid uit een anameer mengsel van de p-nitrobenzoylester van 2,3,5-
tri-O-benzyl β -D-arabinofuranose. De oplossing, die met een met cal-
ciumsulfaat gevulde droogbuis van de atmosfeer is afgesloten, wordt
gedurende 3 dagen bij kamertemperatuur mild geroerd.

Het oplosmiddel wordt vervolgens in vacuo uit het enigszins geel-
bruine condensatieprodukt verwijderd bij een badtemperatuur beneden
15 45°C, waarbij men een ruw mengsel verkrijgt, dat bij het onderstaande
voorbeeld II wordt gebruikt. Een klein monster van het ruwe mengsel
wordt aan een kolom van met zuur gewassen aluminiumoxyde geadsorbeerd
en met ethylacetaat geëluëerd. Het olieachtige produkt vertoont een
[α]_D²⁶ = +115° (c = 2,0 in dichloormethaan), λ _{max}^{CH₃OH} = 276 m/ μ
20 (E = 6401), λ _{min} = 244 m/ μ .

Analyse berekend voor C₃₁H₃₂O₆N₂:

C = 70,45 %, H = 6,10%, N = 5,30%;

Gevonden: C = 69,41 %, H = 6,08%, N = 5,23%.

Indien het bovenstaande voorschrift wordt herhaald en in plaats
25 van het 2,4-dimethoxypyrimidine equivalente hoeveelheden 2-methoxy
4-methylthioprimidine, 2,4-dimethoxy 5-trifluormethylpyrimidine,
2-methoxy 4-methylthio 5-trifluormethylpyrimidine, 2,4-dimethoxy 5-
fluorpyrimidine, 2-methoxy 4-methylthio 5-fluorpyrimidine, 2,4-di-
methoxy 5-methylpyrimidine of 2,4-diethoxy 5-trifluormethylpyrimidine
30 worden gebruikt, verkrijgt men de overeenkomstige pyrimidinonarabino-
siden, die op de plaats 4 of op de plaatsen 4 en 5 zijn gesubstitueerd.

Indien het bovenstaande voorschrift onder toepassing van een equi-
valente hoeveelheid 2,3,5-tri-O-benzyl D-arabinofuranosylbromide in
plaats van het chloride wordt herhaald, verkrijgt men overeenkomstige
35 resultaten.

Bij toepassing van dichloorethaan, benzeen, toluen, xyleen,
hexaan, heptaan, tetrahydrofuran of dimethylether als oplosmiddel

6 5 1 1 4 2 0

in plaats van dichloormethaan verkrijgt men verder dezelfde resultaten waarbij de opbrengst nauwelijks verschilt.

De volgende proef wordt beschreven teneinde aan te tonen dat een aanzienlijke hoeveelheid nevenprodukt wordt gevormd, indien de halo-geensuiker en het pyrimidine bij een verhoogde temperatuur en bij afwezigheid van een oplosmiddel met elkaar tot omzetting worden gebracht.

Bij verhoogde temperatuur wordt een condensatie uitgevoerd zonder oplosmiddel uitgaande van 2.4-dimethoxypyrimidine en 2.3.5-tri-O-benzyl D-arabinofuranosylchloride. Het mengsel wordt 30 uren op een oliebad op een temperatuur van 100°C verhit. Het ruwe reaktiemengsel wordt gechromatografeerd aan een kolom, die met zuur gewassen aluminiumoxyde bevat, en waarbij ethylacetaat als elueermiddel wordt gebruikt. Behalve het gewenste produkt wordt een tweede sneller lopende verbinding verkregen in een hoeveelheid van ongeveer 25% van het produkt, $[\alpha]_D^{25} = +34^\circ$ (c = 2,0 in dichloormethaan), ultraviolet-absorptie met $\lambda_{\text{max}}^{\text{CH}_3\text{OH}} = 264$ en 208 m/ μ , ($\epsilon = 152$, respectievelijk 612). Dit nevenprodukt wordt niet verkregen, indien een oplosmiddelsysteem wordt gebruikt en de condensatie bij lagere temperaturen wordt uitgevoerd, zoals in voorbeeld I is beschreven.

VOORBEELD II

1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-amino 2(1H) pyrimidinon (III)

Het ruwe condensatiemengsel (39 g) van voorbeeld I wordt overgebracht in een grote buis met 190 cm³ watervrij methanol, waaraan 190 cm³ geconcentreerde ammonia wordt toegevoegd. De buis wordt afgesloten en 17 uren in een autoclaaf op een temperatuur van 100°C verhit.

Nadat het vat is geopend, scheidt men het kristallijne produkt door filtratie van het reaktiemengsel af. Het nevenprodukt van de ammonolyse van de overmaat dimethoxypyrimidine blijft in het filtraat achter.

Door herkristallisatie uit 225 cm³ heet ethylacetaat verkrijgt men 19 g (68%) van het gewenste produkt met een smeltpunt van 153 tot 154°C, $[\alpha]_D^{24} = +123^\circ$ (c = 2,0 in dichloormethaan). Ultraviolet-absorptie: $\lambda_{\text{max}}^{\text{CH}_3\text{OH}} = 272,5$ en 232,5 m/ μ ($\epsilon = 8635$, respectievelijk 7504), $\lambda_{\text{min}} = 254$ m/ μ .

Analyse berekend voor C₃₀H₃₁O₅N₃:

C = 70,16%, H = 6,08%, N = 8,18%;
Gevonden: C = 70,24%, H = 5,92%, N = 8,33%.

Indien bij het bovenstaande voorschrift in plaats van de gecon-
centreerde ammonia een equivalente hoeveelheid water vrije ammoniak
5 wordt gebruikt, verkrijgt men het 4-aminoprodukt in praktisch de-
zelfde opbrengst.

Op overeenkomstige wijze verkrijgt men, indien de ammoniak of de
geconcentreerde ammonia bij het bovenstaande voorschrift wordt ver-
vangen door een equivalente hoeveelheid methyamine, ethylamine,
10 propylamine, dimethylamine, diethylamine of dipropylamine, het over-
eenkomstige 4-methylamino-, 4-ethylamino-, 4-propylamino-, 4-dimethyl-
amino-, 4-diethylamino-, respectievelijk 4-dipropylamino 2(1H) pyrimi-
dinonarabinoside.

Volgens het bovenstaande voorschrift verkrijgt men verder de over-
eenkomstige op de plaats 5 gesubstitueerde 2(1H) pyrimidinonen, in
15 dien men equivalente hoeveelheden van de op de plaats 5 gesubstitueer-
de produkten van voorbeeld I bij het bovenstaande voorschrift gebruikt
in plaats van het 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-
methoxy 2(1H) pyrimidinon, hoewel men bij toepassing van het 1-(2'.3'.5'-
20 tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-methoxy 5-trifluormethyl 2(1H)
pyrimidinon behalve de op de plaats 4 geamineerde 5-trifluormethyl-
verbinding tevens het 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl)
4-amino 5-cyaan 2(1H) pyrimidinon verkrijgt, hetgeen wordt bevestigd
door de elementairanalyse en de ultraviolet- en infraroodspectra.

25 VOORBEELD III

1- β -D-arabinofuranosyl 4-amino 2(1H) pyrimidinon (cytosine arabinoside)
(IV)

Men reduceert 5,0 g palladiumchloride, gesuspendeerd in 1000 cm³
water vrij methanol, bij kamertemperatuur met waterstof tot palladium,
30 waarna men hierbij 5,14 g (0,01 mol) grondig gedroogd 1-(2'.3'.5'-
tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-amino 2(1H) pyrimidinon voegt,
dat in 100 cm³ methanol is opgelost. Vervolgens leidt men waterstof
in het mengsel waarbij in verloop van 11 minuten de theoretische hoe-
veelheid waterstof door de zure oplossing wordt geabsorbeerd. De ka-
35 talysator wordt door filtratie verwijderd, waarna men het filtraat
met 125 cm³ "Dowex 2-X8" (anionen-uitwisselende polystyreendimethyl-

5 5 1 1 4 2 3

ethanolbenzylammoniumhars) in de bicarbonaatvorm roert. De hars wordt vervolgens van de neutrale oplossing afgefiltreerd, waarna men het oplosmiddel in vacuo verwijdt.

5 Het kristallijne produkt wordt in water opgelost en afgefiltreerd teneinde gekleurde verontreinigingen te verwijderen. Nadat het filtraat in vacuo praktisch is drooggedampt kristalliseert het cytosinearabino-
noside spontaan uit dat onder toepassing van 15 cm³ ethanol wordt
afgefiltreerd, smeltpunt 212 tot 213°C, opbrengst 1,96 g (80%),
[α]_D²⁴ = +153° (c = 0,5 in water). (Literatuur: smeltpunt 212-213°C,
10 [α]_D = +158°).

Analyse voor C₉H₁₃O₅N₃:

C = 44,44%, H = 5,39%, N = 17,28%

Gevonden: C = 44,85%, H = 5,41%, N = 17,35%.

Indien men het 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β-D-arabinofuranosyl)
15 4-amino 2(1H) pyrimidinon bij het bovenstaande voorschrift vervangt
door een equivalente hoeveelheid 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β-D-arabi-
nofuranosyl) 4-amino 5-trifluormethyl 2(1H) pyrimidinon, 1-(2'.3'.5'-
tri-O-benzyl β-D-arabinofuranosyl) 4-amino 5-cyaan 2(1H) pyrimidinon,
1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β-D-arabinofuranosyl) 4-oxo 2(1H) pyrimidi-
20 non, 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β-D-arabinofuranosyl) 4-oxo 5-trifluor-
methyl 2(1H) pyrimidinon, 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β-D-arabinofurano-
syl) 4-methylamino 2(1H) pyrimidinon, 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β-D-
arabinofuranosyl) 4-methylamino 5-trifluormethyl 2(1H) pyrimidinon
of 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β-D-arabinofuranosyl) 4-dimethylamino
25 2(1H) pyrimidinon, verkrijgt men het overeenkomstige 1-β-D-arabino-
furanosylpyrimidinon, dat op de plaats 4 of de plaatsen 4 en 5 is
gesubstitueerd.

VOORBEELD IV

4-N-acetyl 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β-D-arabinofuranosyl) cytosine

30 (V)

Men lost 4,39 g (0,01 mol) stroperig 2.3.5-tri-O-benzyl D-arabi-
nofuranosylchloride in 65 cm³ vers gedestilleerd tolueen op, waarna
men de oplossing in twee gedeelten bij een onder terugvloei-
kokende suspensie van grondig gedroogd 1-acetylcytosine-kwik in 100
35 cm³ tolueen voegt. Juist voor het toevoegen van het chloride wordt
de suspensie gedroogd door 30 cm³ tolueen azeotroop af te destilleren

5311420

uit een mengsel van 130 cm³ tolueen en 1,76 g (0,005 mol) van het 1-acetylcytosine-kwik, dat zich in het reaktievat bevindt. Nadat het mengsel onder intensief roeren 30 minuten onder terugvloei-koeling is gekookt, verkrijgt men een heldere oplossing. Na afkoeling giet men de oplossing in 500 cm³ petroleumether uit, waarna men het mengsel een nacht in een koelkast bij een temperatuur van 5°C laat staan.

Daar geen kristallisatie optreedt concentreert men de oplossing in vacuo tot een dunne stroop, die men in 200 cm³ chloroform oplost, met 25 cm³ van een 30% 's kaliumjodideoplossing en met 25 cm³ water wast, op magnesiumsulfaat droogt en weer concentreert, waarbij men 5,18 g van een ruwe stroop verkrijgt. Uit de filmchromatografie blijkt, dat het produkt uit een mengsel bestaat. Het wordt gechromatografeerd en gescheiden op 250 g silicagel onder toepassing van een 50% ethyl-acetaat/benzeen-oplosmiddelsysteem. Uit de kolom wordt één grote fraktie (3,0 g) en verscheidene sporenfrakties geëluëerd, voordat het gewenste produkt, het 4-N-acetyl 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β-D-arabinofuranosyl) cytosine als een stroop wordt geïsoleerd (0,80 g), $\lambda_{\text{max}}^{\text{CH}_3\text{OH}} = 300$ en 248 m μ ($\epsilon = 7334$, respectievelijk 14168), $\lambda_{\text{min}} = 273,5$ m μ .

Analyse berekend voor C₃₂H₃₃O₆N₃:

C = 69,17%, H = 5,98%, N = 7,56%

Gevonden: C = 68,77%, H = 5,80%, N = 7,36%.

Men verkrijgt overeenkomstige resultaten, indien men het 4-acetyl-aminó 2(1H) pyrimidinon-kwikcomplex bij het bovenstaande voorschrift vervangen wordt door een equivalente hoeveelheid van het kwikcomplex van 4-acetylamino 5-trifluormethyl 2(1H) pyrimidinon.

VOORBEELD V

1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β-D-arabinofuranosyl) 4-amino 2(1H) pyrimidinon (III)

Men lost 0,80 g (0,144 mmol) gezuiverd 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl; β-D-arabinofuranosyl) 4-acetylamino 2(1H) pyrimidinon in 8 cm³ ethanol op, waarna men 3,1 cm³ van een 1 n.natriumhydroxydeoplossing toevoegt en het mengsel onder roeren gedurende 30 minuten op een temperatuur van 70 tot 80°C verwarmt. Zodra de oplossing afkoelt, extraheert men het produkt met chloroform, waarna men het chloroform-extrakt op magnesiumsulfaat droogt en het oplosmiddel verwijdt. Het

6 5 1 1 4 2 0

residu wordt tweemaal uit ethylacetaat gekristalliseerd, waarbij men 325 mg (44%) 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-amino 2(1H) pyrimidinon met een smeltpunt van 148 tot 151°C, $[\alpha]_D^{23} = +117,9^\circ$ (c = 2,0 in dichloormethaan) verkrijgt.

5 Analyse berekend voor $C_{30}H_{31}O_5N_3$:
C = 70,16%, H = 6,08%, N = 8,18%
Gevonden: C = 69,83%, H = 6,10%, N = 8,27%.

VOORBEELD VI

1- β -D-arabinofuranosyl 4-amino 2(1H) pyrimidinon (cytosinearabino- side) (IV)

10 Men reduceert 120 mg palladiumchloride, dat in 75 cm³ watervrij methanol is gesuspenderd, bij kamertemperatuur met waterstof tot palladium, waarna men bij de suspensie 150 mg 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-amino 2(1H) pyrimidinon voegt, dat
15 in 25 cm³ watervrij methanol is opgelost. Het mengsel wordt onder schudden bij kamertemperatuur gehydrogeneerd, totdat de theoretische hoeveelheid waterstof is geabsorbeerd. Na het verwijderen van de katalysator door filtratie leidt men de zure oplossing door een kolom, die 6 cm³ "Dowex 2-X8" (HCO₃⁻) ionen-uitwisselende bevat, waarna men
20 de neutrale vloeistof in vacuo concentreert. Men verkrijgt 100 mg met een hoger smeltpunt van 154 tot 156°C.

De hydrogenolyse wordt met succes herhaald onder toepassing van 100 mg palladiumchloride, dat in 20 cm³ watervrij methanol is gesuspenderd, waarbij men de hydrogenering echter 24 uren voortgang
25 laat vinden, waarbij de theoretische hoeveelheid waterstof, 13,2 cm³ wordt geabsorbeerd.

Het produkt wordt volgens het voorschrift van voorbeeld III opgewerkt, in heet 50%'s waterig methanol opgelost en afgefiltreerd teneinde een onoplosbare stof te verwijderen, die bij verbranding een
30 residu levert en ten opzichte van vochtig pH-papier een alkalische reaktie bezit. Nadat het oplosmiddel in vacuo is verwijderd wordt het harde glasachtige materiaal door tritureren met een kleine hoeveelheid ethanol gekristalliseerd, opbrengst 23 mg (50%), smeltpunt 212 tot 213°C, $[\alpha]_D^{24} = +129^\circ$ (c = 0,5 in water).

35 Analyse berekend voor $C_{19}H_{13}O_5N_3$:
C = 44,44%, H = 5,39%, N = 17,28%
Gevonden: C = 43,53%, H = 5,01%, N = 16,57%.

6 5 1 1 4 2 0

VOORBEELD VII

1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinosyl) 4-methylthioprimidinon (VI)

Bij een suspensie van 0,131 g van een 50%^s emulsie van natriumhydride in minerale olie (2,8 mmol) in 15 cm³ watervrij dimethylformamide voegt men onder roeren 0,403 g (2,8 mmol) 4-methylthioprimidinon-(2). Vervolgens voegt men een oplossing van 1,2 g (2,8 mmol) 2.3.5-tri-O-benzyl D-arabinosylchloride in 10 cm³ dimethylformamide toe, waarna men het mengsel 18 uren bij kamertemperatuur roert. Het mengsel wordt met 100 cm³ koud water behandeld en met ether geëxtraheerd. De etheroplossing wordt met water gewassen, op magnesiumsulfaat gedroogd en geconcentreerd tot een gele olie met een gewicht van 1,43 g. Bij het chromatograferen aan 50 g silicagel verkrijgt men als een piek 1,34 g produkt, dat met ether wordt geëluëerd.

VOORBEELD VIII

1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinosyl) 4-aminoprimidinon (III)

Men verhit een mengsel van 120 mg van de 4-methylthioverbinding (VI), verkregen volgens voorbeeld VII, 15 cm³ methanol en 15 cm³ vloeibare ammoniak gedurende 12 uren in een autoclaaf op een temperatuur van 100°C. Na het afdampen van het oplosmiddel wordt het residu met ether/ethylacetaat getrittureerd en vervolgens uit ethylacetaat herkristalliseerd, waarbij men 10,5 mg produkt met een smeltpunt van 150 tot 155°C verkrijgt, dat geen smeltpuntsverlaging vertoont bij vermenging van een monster bereid uit 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabino-furanosyl) 4-methoxy-2(1H) pyrimidinon. De infraroodspectra (nujol-preparaat) van de twee monsters is identiek.

VOORBEELD IX

2.4-dichloor 5-trifluormethylpyrimidine

Bij 5,0 g (0,0277 mol) 5-trifluormethyluracil, dat in 20 cm³ fosforoxychloride is gesuspenderd, voegt men 4,9 g N.N-diethylaniline. Het mengsel wordt 23 uren op een oliebad onder terugvloei-coeling gekookt, afgekoeld en in vacuo tot een volume van 10 cm³ geconcentreerd en vervolgens op 20 g ijs uitgegoten. Na intensief roeren teneinde het onttleden van de overmaat fosforoxychloride te voltooien extraheert men het mengsel viermaal met telkens 50 cm³ ether, waarna men de etherextracten verenigt en achtereenvolgens wast met 30 cm³ van een natriumbicarbonaatoplossing en 20 cm³ water. De etheroplossing wordt

6 5 1 1 4 2 0

op calciumchloride gedroogd en onder atmosferische druk door destillatie geconcentreerd onder toepassing van een Vigreux-kolom met een lengte van 40 cm. De laatste 10 cm³ worden zorgvuldig in vacuo verwijderd. Bij destillatie onder enigszins verminderde druk verkrijgt men 3,5 g (58%) van een licht gele olie, kookpunt 126°C/650 mm Hg, $\lambda_{\text{CH}_3\text{OH}}^{\text{max}} = 266$ en 213 m μ ($\epsilon = 2452$, respectievelijk 9309), $\lambda_{\text{min}} = 237$ m μ .

Analyse berekend voor C₅H₁N₂Cl₂F₃:

C = 27,66%, H = 0,47%, Cl = 32,67%, F = 26,27%;

10 Gevonden: C = 28,57%, H = 0,58%, Cl = 32,62%, F = 27,7 %.

Deze stof wordt zonder verdere zuivering gebruikt.

VOORBEELD X.

2,4-dimethoxy 5-trifluormethylpyrimidine.

15 Men voegt een oplossing van 3,16 g (0,0145 mol) 2,4-dichloor 5-trifluormethylpyrimidine in 7 cm³ watervrij methanol druppelsgewijs onder roeren bij een oplossing van 1,57 g (0,0290 mol) natriummethanolat, opgelost in 10 cm³ methanol. Uit de oplossing scheidt zich onmiddellijk natriumchloride af, terwijl de oplossing tijdens het toevoegen warm wordt. De suspensie wordt nog 30 minuten geroerd, waarna men
20 het natriumchloride affiltreert (opbrengst 99%) en het filtraat tot een volume van 10 cm³ concentreert door het oplosmiddel onder atmosferische druk onder toepassing van een Vigreux-kolom af te destilleren. Het residu wordt in 60 cm³ ether opgelost, met 7 cm³ van een 20%^s natriumhydroxydeoplossing en 7 cm³ water gewassen en op natrium-
25 sulfaat gedroogd. Het oplosmiddel wordt door destillatie onder toepassing van een Vigreux-kolom verwijderd, waarbij men het laatste gedeelte van het oplosmiddel zorgvuldig onder enigszins verminderde druk verwijdert. De resterende vaste stof wordt herkristalliseerd door deze in een minimale hoeveelheid petrôleumether op te lossen
30 en de oplossing in droogijs af te koelen, opbrengst 2,90 g (96%), smeltpunt 55 tot 56°C, $\lambda_{\text{CH}_3\text{OH}}^{\text{max}} = 257$ en 216 m μ ($\epsilon = 5366$, respectievelijk 9817), $\lambda_{\text{min}} = 236,5$ m μ .

Analyse berekend voor C₇H₇O₂N₂F₃:

C = 40,39%, H = 3,39%, N = 13,45%, F = 27,39%

35 Gevonden: C = 40,89%, H = 3,06%, N = 13,29%, F = 25,31%.

Men verkrijgt de overeenkomstige dialkoxyverbinding bij het boven-

staande voorschrift, indien men in plaats van natriummethanolaat natrium- of kaliumethanolaat, -propanolaat of -butanolaat gebruikt.

VOORBEELD XI

5 1-(2',3',5'-tri-O-benzyl ̢-D-arabinofuranosyl) 4-methoxy 5-trifluor-methyl 2(1H) pyrimidinon

Men filtreert 80 cm³ dichloormethaan, dat op magnesiumsulfaat is gedroogd, direkt af in een droge kolf, die 5,60 g (0,0128 mol) 2.3.5-tri-O-benzylarabinofuranosylchloride bevat. Een oplossing van 2,66 g (0,0128 mol) 2.4-dimethoxy 5-trifluormethylpyrimidine in 20 cm³ dichloormethaan wordt op natriumsulfaat gedroogd en vervolgens direkt
10 in het reaktievat afgefiltreerd. De oplossing wordt gedurende 3 dagen mild bij kamertemperatuur geroerd en daarbij met behulp van een chloorcalciumbuisje van de atmosfeer afgesloten. Na het verwijderen van het oplosmiddel gebruikt men het ruwe produkt, dat in een op-
15 brengst van 7,5 g (kwantitatief) wordt verkregen, zonder zuivering bij het volgende voorbeeld.

(voorbeeld XII)

Voorbeeld XII.

1-β-D-arabinofuranosyl 4-methoxy 5-trifluormethyl 2(1H) pyrimidinon.

Men lost 2 g van het ruwe condensatieprodukt, verkregen volgens voorbeeld XI, in 90 cm³ watervrij methanol (gedroogd op moleculaire zeef) op en voegt 2 g palladiumchloride toe, dat te voren gesuspenderd en gereduceerd is in 60 cm³ watervrij methanol. Na 3 minuten schudden bij kamertemperatuur wordt de theoretische waterstofabsorptie waargenomen. Na het affiltreren van de katalysator wordt de zure oplossing ladingsgewijs met "Dowex 2-X8" (HCO₃⁻) geneutraliseerd en afgefiltreerd. Zodra het oplosmiddel in vacuo is verwijderd treedt een spontane kristallisatie op. Het produkt wordt met water getrittureerd, afgefiltreerd en verscheidene malen gewassen teneinde het als verontreiniging aanwezige arabinofuranose te verwijderen. Het produkt wordt herkristalliseerd door het in de minimale hoeveelheid methanol op te lossen, een gelijke volumehoeveelheid ether en een overmaat hexaan toe te voegen. Men verkrijgt hierbij 0,720 g (66 %) zuiver produkt met een smeltpunt van 184 - 186°C, $[\alpha]_D = +133,4^\circ$ (c = 0,5 in methanol). Ultravioletspectra: pH 2: $\lambda_{\max} = 270$ en $205 \text{ m}\mu$ ($\epsilon = 5933$, respectievelijk 18.006), $\lambda_{\min} = 238 \text{ m}\mu$, pH 12: $\lambda_{\max} = 278$ en $217 \text{ m}\mu$ ($\epsilon = 6390$ respectievelijk 12.812), inflectie bij $225 \text{ m}\mu$ ($\epsilon = 12.290$), $\lambda_{\min} = 255 \text{ m}\mu$.

Analyse berekend voor C₁₁H₁₃O₆N₂F₃:

C = 40,50 %, H = 4,02 %, N = 8,58 %, F = 17,47 %

Gevonden: C = 40,68 %, H = 3,80 %, N = 8,52 %, F = 17,3 %.

Voorbeeld XIII.

5-trifluormethyl 1-β-D-arabinofuranosyluracil.

Bij 5 cm³ van een 1,1 n.chloorwaterstofoplossing in methanol voegt men 160 mg 1-β-D-arabinofuranosyl 4-methoxy 5-trifluormethyl 2(1H) pyrimidinon. De oplossing wordt gedurende 3 dagen in een goed gesloten stopfles op kamertemperatuur gehouden na het concentreren in vacuo wordt het residu in een minimale hoeveelheid methanol opgelost, met ether verdund en door toevoeging van hexaan tot kristallisatie gebracht. Na eenmaal herkristalliseren verkrijgt men 125 mg, (82 %) van het zuivere produkt met een smeltpunt van 225 tot 227°C, $[\alpha]_D = +76^\circ$ (c = 0,5 in water). Ultravioletspectra: pH = 2: $\lambda_{\max} = 262,5$ en $205 \text{ m}\mu$ ($\epsilon = 10.296$, respectievelijk 8923).

6 5 1 1 4 2 0

$\lambda_{\min} = 228 \text{ m}/\mu$; pH = 12, direct na het oplossen: $\lambda_{\max} = 262,5 \text{ m}/\mu$ ($\epsilon = 7020$), $\lambda_{\min} = 241 \text{ m}/\mu$, na één uur: $\lambda_{\max} = 267 \text{ m}/\mu$ ($\epsilon = 7238$), $\lambda_{\min} = 247,5 \text{ m}/\mu$, na 24 uren: $\lambda_{\max} = 272 \text{ m}/\mu$ ($\epsilon = 8170$), $\lambda_{\min} = 249,5 \text{ m}/\mu$

5 Analyse berekende voor $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{O}_6\text{N}_2\text{F}_3$:

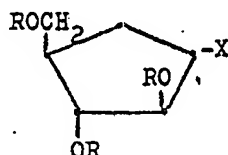
C = 38,47 %, H = 3,55 %, N = 8,89 %, F = 18,25 %

Gevonden: C = 38,11 %, H = 3,81 %, N = 8,80 %, F = 19,4 %

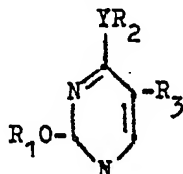
CONCLUSIES

1. Werkwijze voor het bereiden van arabinofuranosyl-pyrimidinen, met het kenmerk, dat men een 2.3.5-tri-O-aralkyl D-arabinofuranosylhalogenide condenseert met een op de plaats 2 geoxygeneerd en op de plaats 4 gesubstitueerd pyrimidine, waarvan het stikstofatoom op de plaats 1 geactiveerd is voor condensatie met het halogenide, de geoxygeneerde substituent op de plaats 2 een alkoxygroep of een oxogroep is en de substituent op de plaats 4 een zwavel-, zuurstof- of stikstofatoom omvat, die direct aan de pyrimidinering is gebonden, waarna men de pyrimidinester eventueel amineert en/of, indien gewenst, de aralkylgroepen door hydrogenolyse van de arabinofuranosylrest verwijdert.

2. Werkwijze volgens conclusie 1, met het kenmerk, dat men een halogeenaarabinoside met de formule

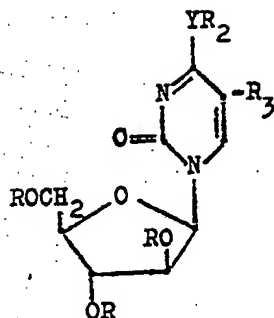


waarin R een aralkylgroep en X een halogeenaatoom voorstellen, bij een temperatuur van 0 tot 70°C en bij aanwezigheid van een inert oplosmiddel met een pyrimidine met de formule

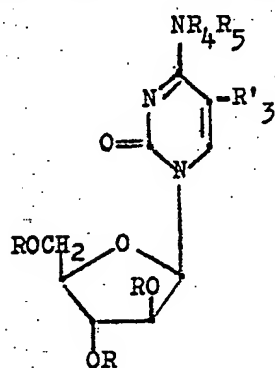


25 waarin R_1 en R_2 alkylgroepen, R_3 een waterstofatoom, een alkylgroep, een halogeenaatoom of een gehalogeneerde alkylgroep en Y een zuurstof- of zwavelatoom voorstellen, omzet in een β -nucleoside met de formule

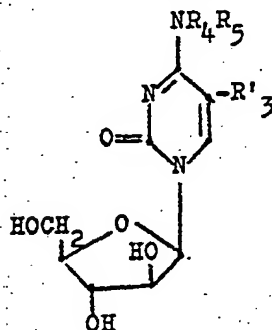
6 5 1 1 4 2 0



waarna men het β -nucleoside eventueel door behandeling met een amineringsmiddel omzet in een geamioneerde verbinding met de formule



5 waarin R'_3 een waterstofatoom, alkylgroep, halogeenatoom, gehalogeneerde alkylgroep of cyaangroep en R_4 en R_5 waterstofatomen en/of alkylgroepen voorstellen, met dien verstande, dat, indien R'_3 een cyaangroep voorstelt, beide resten R_4 en R_5 waterstofatomen zijn en, indien gewenst, het geamioneerde produkt bij aanwezigheid van een katalysator met waterstof behandelt onder vorming van een ontaralkyleerde verbinding met de formule



10 3. Werkwijze volgens conclusie 2, met het kenmerk, dat men als oplosmiddel voor de condensatiereactie één of meer gehalogeneerde alifatische koolwaterstoffen, alkanen, esters,

6 5 1 1 4 2 3

ethers en/of aromatische oplosmiddelen gebruikt.

4. Werkwijze volgens conclusie 3, met het kenmerk, dat men als oplosmiddel een α .W-dichlooralkaan gebruikt.

5 5. Werkwijze volgens conclusie 4, met het kenmerk, dat men als oplosmiddel dichloormethaan gebruikt.

6. Werkwijze volgens een der conclusies 2 tot 5, met het kenmerk, dat men uitgaat van verbindingen, waarin X een chlooratoom en R_3 een waterstofatoom voorstellen.

10 7. Werkwijze volgens een der conclusies 2 tot 5, met het kenmerk, dat men uitgaat van verbindingen, waarin X een chlooratoom, R een benzylgroep, R_1 een methylgroep, R_2 een methylgroep en R_3 een trifluormethylgroep voorstellen.

15 8. Werkwijze volgens een der voorafgaande conclusies, met het kenmerk, dat men als halogeenarabinoside 1-(2.3.5-tri-O-benzyl D-arabinosyl) chloride gebruikt.

9. Werkwijze volgens een der conclusies 1 tot 6, met het kenmerk, dat men als pyrimidinereactiecomponent 2.4-dimethoxy-pyrimidine gebruikt.

20 10. Werkwijze volgens een der conclusies 1 tot 5, 7 en 8, met het kenmerk, dat men als pyrimidinereactiecomponent 2.4-dimethoxy 5-trifluormethylpyrimidine gebruikt.

11. Werkwijze volgens een der conclusies 1 tot 5, 7 en 8, met het kenmerk, dat men als pyrimidinereactiecomponent 2-methoxy 4-methylthio 5-trifluormethylpyrimidine gebruikt.

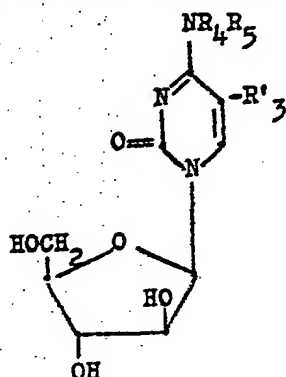
25 12. Werkwijze volgens een der voorafgaande conclusies, met het kenmerk, dat men als amineringsmiddel ammoniak, ammonia, een alkylamine of een dialkylamine gebruikt.

30 13. Werkwijze volgens een der voorafgaande conclusies, met het kenmerk, dat men als katalysator bij de reductieve ontalkylering palladium gebruikt.

35 14. Werkwijze volgens een der voorafgaande conclusies, met het kenmerk, dat men 2.3.5-tri-O-benzyl D-arabinofuranosyl-chloride in een oplosmiddel met de pyrimidinereactiecomponent condenseert en het verkregen β -nucleoside met ammoniak amineert, terwijl men voor de hydrogenolyse een reductiesysteem bestaande uit waterstof en een palladiumkatalysator gebruikt en zo een verbinding

6 5 1 1 4 2 0

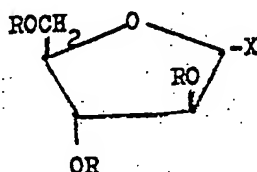
bereidt, die beantwoordt aan de formule



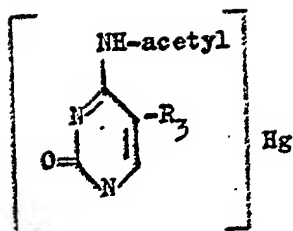
waarin R'_3 de in conclusie 2 genoemde betekenis bezit en R_4 en R_5 waterstofatomen voorstellen.

15. Werkwijze volgens een der conclusies 1 tot 6, 8, 9 en 12 tot 14, met het kenmerk, dat men 2.3.5-tri-O-benzyl D-arabinofuranosylchloride bij aanwezigheid van een oplosmiddel en bij een temperatuur van 0 tot 70°C met 2.4-dimethoxypyrimidine omzet in 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-methoxy 2(1H) pyrimidinon en deze verbinding met vloeibare ammoniak amineert tot 1-(2'.3'.5'-tri-O-benzyl β -D-arabinofuranosyl) 4-amino 2(1H) pyrimidinon, waarna men de laatstgenoemde verbinding door behandeling met waterstof bij aanwezigheid van een palladiumkatalysator omzet in 1- β -D-arabinofuranosyl 4-amino 2(1H) pyrimidinon.

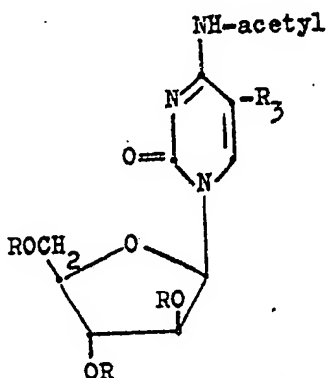
16. Werkwijze volgens conclusie 1, met het kenmerk, dat men een halogeenaarabinozide met de formule



waarin R een aralkylgroep en X een halogeenaatoom voorstellen, bij aanwezigheid van een oplosmiddel en bij een temperatuur van 0 tot 100°C met een kwikcomplex van een N-acetylcytosine met de formule



waarin R_3 een waterstofatoom, alkylgroep, halogeenatoom of gehalogeneerde alkylgroep voorstelt, omzet in een verbinding met de formule



en de op deze wijze verkregen verbinding door behandeling met een base ontacetyleert.

17. Werkwijze volgens conclusie 16, met het kenmerk, dat men uitgaat van verbindingen, waarin R een benzylgroep, X een chlooratoom en R_3 een waterstofatoom voorstellen en de condensatie van het halogeenarabinoside met het kwikcomplex uitvoert bij aanwezigheid van toluen, terwijl men als base voor het ontacetyleren een alkalimetaalhydroxyde gebruikt.

18. Werkwijze volgens conclusie 16, met het kenmerk, dat men uitgaat van verbindingen, waarin R een benzylgroep, X een chlooratoom en R_3 een trifluormethylgroep voorstellen, en de condensatie van het halogeenarabinoside en het kwikcomplex uitvoert bij aanwezigheid van toluen, terwijl men als base voor het ontacetyleren een alkalimetaalhydroxyde gebruikt.

19. Werkwijze volgens een der conclusies 1 tot 10, met het kenmerk, dat men een 2.3.5-tri-O-aralkyl D-arabinofuranosylhalogenide condenseert men een 2-alkoxy 4-alkoxy- of -alkylthioprimidine, waarna men de 4-alkoxy- of -alkylthiogroep van de pyrimidinereest van het verkregen β -nucleoside hydrolyseert

6 5 1 1 4 2 0

en eventueel de aralkylgroep door hydrogenolyse van de arabino-furanosylrest verwijdert.

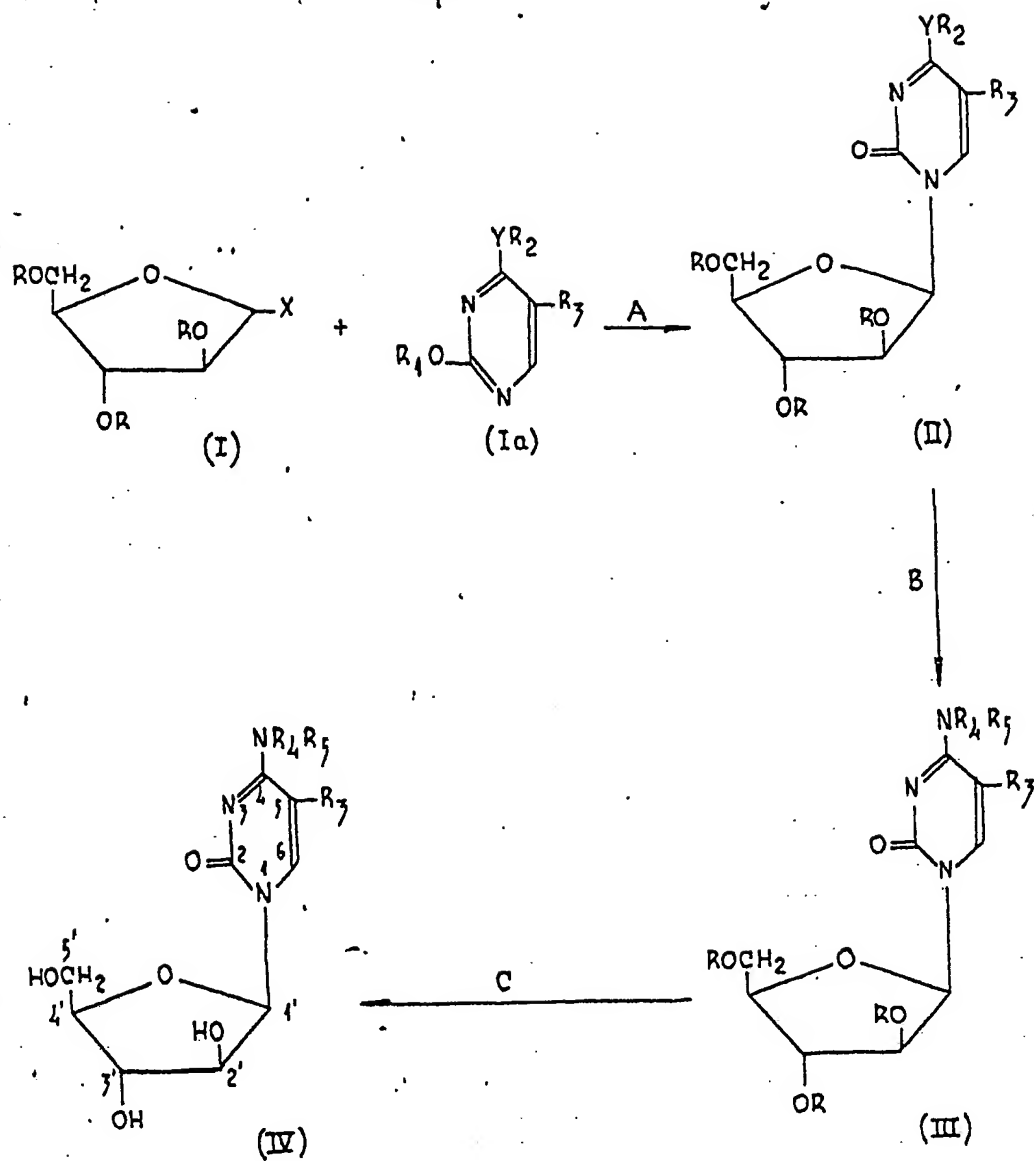
5 20. Werkwijze volgens conclusie 19, met het kenmerk, dat men de hydrolyse uitvoert door de verbinding in aanraking te brengen met een mineraal zuur eventueel bij aanwezigheid van een alkanol.

10 21. Werkwijze volgens conclusie 1, met het kenmerk, dat men een 2.3.5-tri-O-aralkyl D-arabinofuranosylhalogenide omzet met een alkalimetaalderivaat van een 4-alkylthio- of -alkoxy-pyrimidinon-(2), bij voorkeur bij aanwezigheid van een oplosmiddel.

15 22. Werkwijze volgens conclusie 21, met het kenmerk, dat men een mengsel van het pyrimidine, het halogeenarabinoside en een alkalimetaalhydride gelijktijdig met elkaar tot omzetting brengt bij aanwezigheid van een oplosmiddel en bij een temperatuur van 0 tot 50°C.

* * * * *

Fig. 1.



6511420

MERCK & CO., INC.
Rahway, New Jersey

Fig. 2.

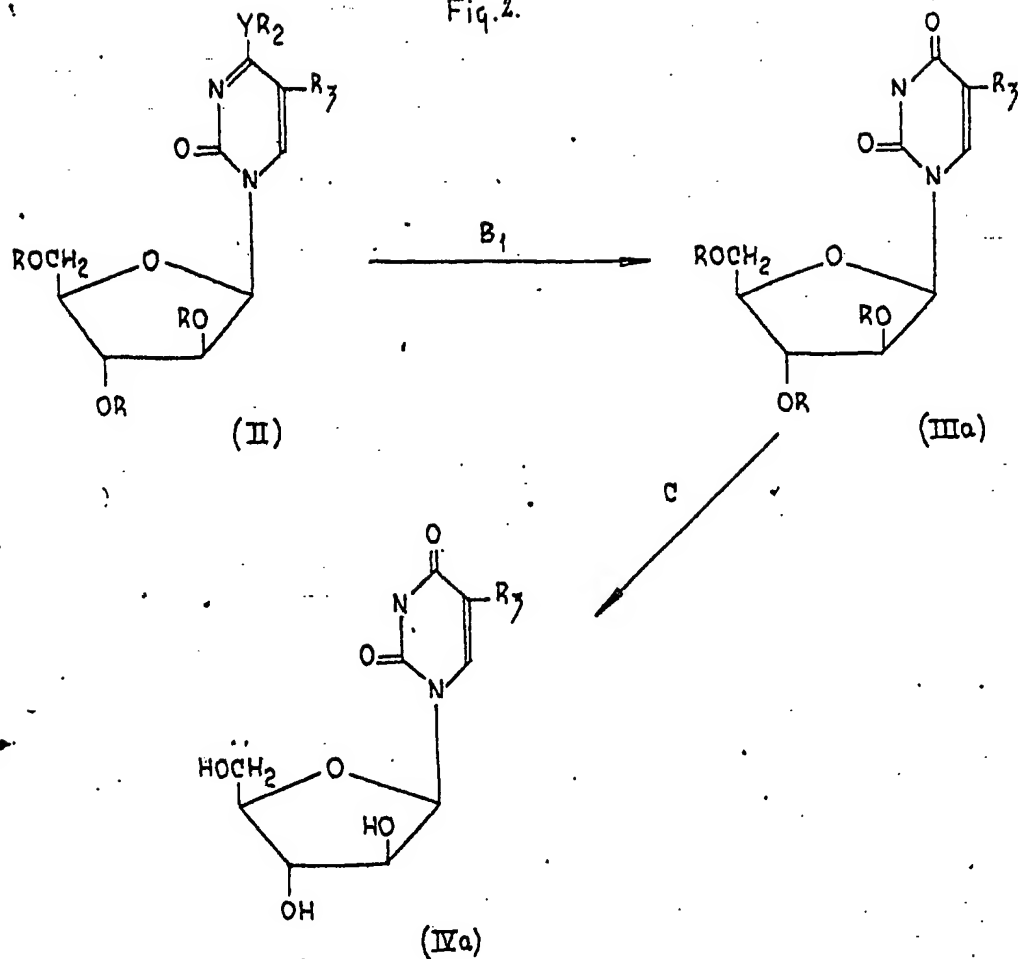


Fig. 3.

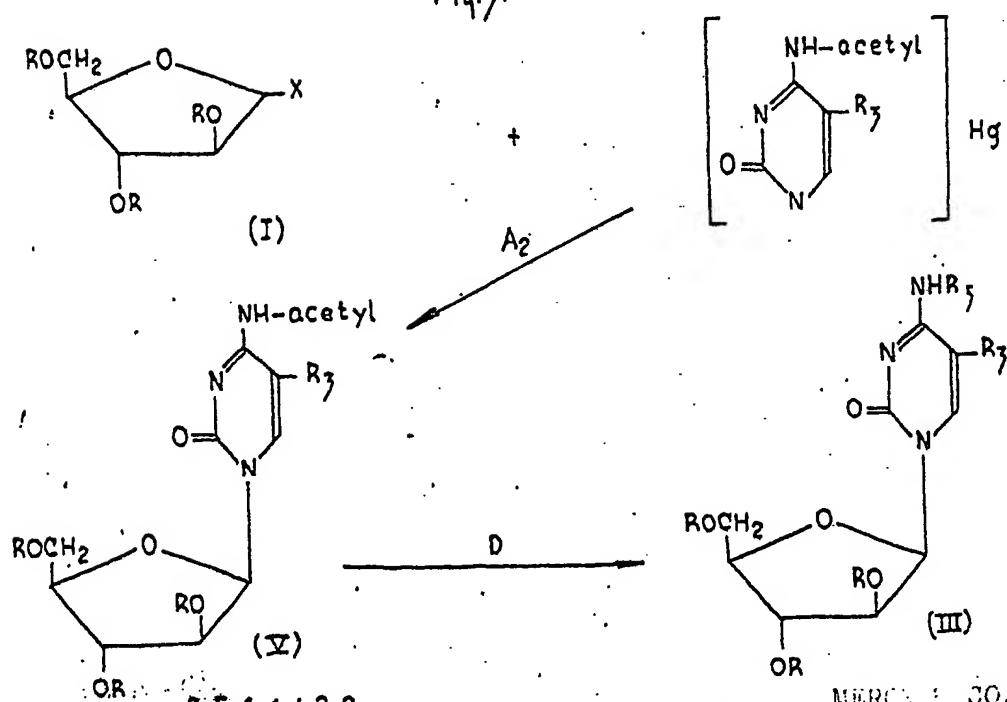
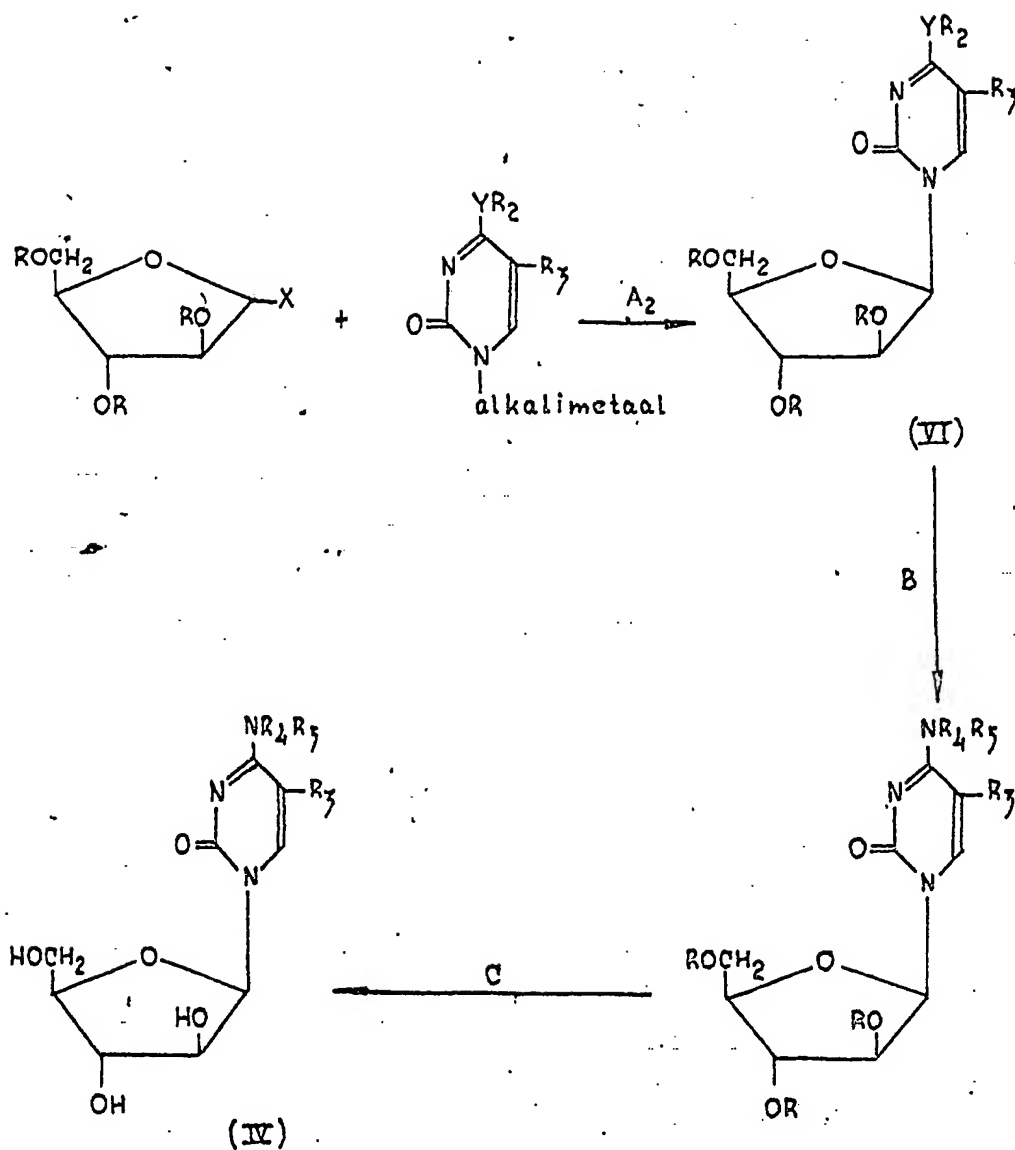


Fig. 4.



MERCK & CO., INC.
Rahway, New Jersey

651,1420

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.